

Jurnal Lahan Suboptimal

ISSN: 2252-6188 (Print), ISSN: 2302-3015 (Online, www.jlsuboptimal.unsri.ac.id)

Vol. 5, No.1: 79-85 April 2016

Peningkatan Asam Lemak Tak Jenuh (Pufas) Dengan Menggunakan *Rhizopus Oryzae* Dalam Fermentasi Bekatul

Increasing Of Polyunsaturated Fatty Acids (Pufas) By Using *Rhizopus Oryzae* In The Fermented Bran

E. Sahara, F. Yosi, dan S. Sandi

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya
Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32, Indralaya, Ogan Ilir, Sumsel, 30662.
e-mail: elisahara.unsri@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine 1) the volume of inoculums and the optimum incubation time during the fermentation process; 2) the types of polyunsaturated fatty acids during fermentation; and 3) the presence of omega-3 essential fatty acids in bran fermentation. The study used fermentation method using *R. oryzae*. Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS) was used to determine the type of polyunsaturated fatty acids and omega-3 contained in the fermented bran. This study used 9 treatments, V3H3, V3H6, V3H9, V5H3, V5H6, V5H9, V7H3, V7H6, and V7H9. The results showed 1) the volume of inoculums and the fermentation time V7H3 was the most optimum result; 2) there were 13 types of polyunsaturated fatty acids, and 3) there was the content of omega-3 in bran fermented.

Keywords: unsaturated fatty acids, fermentation, rice bran, *Rhizopus oryzae*,

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan 1). volume inokulum dan waktu inkubasi yang optimum selama proses fermentasi; 2). jenis-jenis asam lemak tak jenuh selama fermentasi; dan 3). adanya kandungan asam lemak omega -3 esensial dalam fermentasi bekatul. Penelitian menggunakan metode fermentasi dengan menggunakan *R. oryzae*. Gas chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS) digunakan untuk menentukan jenis asam lemak tak jenuh dan omega 3 yang terdapat dalam fermentasi bekatul. Penelitian ini menggunakan 9 perlakuan, V3H3, V3H6, V3H9, V5H3, V5H6, V5H9, V7H3, V7H6, dan V7H9. Hasil penelitian menunjukkan 1) volume inokulum dan waktu fermentasi V7H3 merupakan hasil yang paling optimum; 2) terdapat 13 jenis asam lemak tak jenuh, dan 3) terdapat kandungan omega 3 dalam fermentasi bekatul.

Kata Kunci: asam lemak tak jenuh, fermentasi, bekatul, *Rhizopus oryzae*,

PENDAHULUAN

Lemak atau minyak merupakan nutrisi yang sangat bermanfaat sebagai sumber energi tubuh. Energi yang dihasilkan oleh lemak jauh lebih besar dari energi yang dihasilkan oleh karbohidrat. Apabila energi pokok utama sudah terpenuhi dari makanan yang dikonsumsi ,

maka sisanya akan disimpan dalam bentuk lemak sebagai cadangan energi. Lemak dan turunannya berupa asam lemak berperan penting dalam kesehatan manusia. Menurut Almtsier (2002), asam lemak adalah asam organik yang terdiri atas rantai hidrokarbon lurus yang pada satu ujung mempunyai gugus karboksil (COOH) dan pada ujung gugus lain gugus metil (CH₃). Asam lemak

dibedakan atas asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang mengandung satu atau lebih ikatan rangkap. Asam lemak omega-3 adalah asam lemak yang mempunyai posisi ikatan rangkap pertama pada atom karbon nomor tiga dari ujung gugus metilnya, asam- asam lemak alami yang termasuk kelompok asam lemak omega-3 adalah asam lemak *linolenat* (C18:3), *eikosa-pentaenoat* (EPA atau C20:5) dan *dokosaheksaenoat* (DHA atau C22:6). Asam lemak tak jenuh sangat baik untuk kesehatan manusia, seperti mengurangi resiko penyakit arterosklerosis dan kardiovaskular (Ardiyansyah, 2008) dan meningkatkan kecerdasan otak serta penglihatan (Huang *et al.*, 2002). Mengingat kebutuhan lemak dan asam lemak tak jenuh sangat penting, maka perlu dicari suatu upaya untuk memproduksi dan memperkaya kandungan asam lemak tak jenuh ini.

Alternatif sumber lemak dan asam lemak tak jenuh yang paling potensial untuk dikembangkan adalah penggunaan mikroorganisme dalam media fermentasi. Jenis mikroorganisme yang paling potensial untuk menghasilkan asam lemak tak jenuh adalah kapang. Hal ini disebabkan karena kapang lebih mudah ditangani, dapat tumbuh pada kisaran pH yang rendah, dapat mendegradasi sumber karbon yang kompleks dan dapat tumbuh cepat dalam limbah serta dapat menghasilkan berbagai asam lemak. Kecuali itu kapang telah banyak digunakan masyarakat dalam pembuatan tempe atau oncom melalui fermentasi padat seperti jenis kapang *R. oryzae*. Menurut Sofyan, (2003) kapang mempunyai karakteristik yang unik yaitu dapat tumbuh dengan cepat pada suhu 30°C – 37°C, sehingga cocok dengan kondisi suhu di Indonesia adalah sekitar 30°C dengan kelembaban 90% sangat sesuai untuk pertumbuhan *R. oryzae*. Menurut Pagarra (2009), pH optimum untuk pertumbuhan *Rhizopus oryzae* adalah sekitar 3,4- 6. Pada media campuran yang digunakan, pH dari media adalah berkisaran

5- 6,5. Hal ini tidak terlalu berpengaruh terhadap pertumbuhan spora dikarenakan kapang tersebut tetap tumbuh meskipun tidak optimal. Sumanti *et al.*, (2017) menyatakan bahwa kapang merupakan mikroorganisme *oleaginous* yang paling tepat untuk menghasilkan lemak dibandingkan dengan bakteri dan khamir. Hal ini disebabkan karena kapang lebih mudah ditangani, dapat tumbuh pada kisaran pH yang rendah, dapat mendegradasi sumber karbon (C) yang kompleks dan mampu tumbuh cepat pada limbah serta dapat menghasilkan berbagai asam lemak.

Pertumbuhan kapang sangat dipengaruhi oleh substrat sebagai penyedia nutrisi; sumber karbon, sumber N, sumber energi dan sumber pertumbuhan berupa vitamin mineral. Bekatul sebagai sisa limbah pertanian yang kaya akan nutrisi sangat cocok digunakan sebagai media pertumbuhan kapang. Untuk meningkatkan nilai nutrisi dan meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh maka diperlukan fermentasi dengan menggunakan kapang *R. oryzae*. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk menentukan 1). volume inokulum dan waktu inkubasi yang optimum selama proses fermentasi; 2). jenis-jenis asam lemak tak jenuh selama fermentasi; dan 3). adanya kandungan asam lemak omega -3 esensial dalam fermentasi bekatul.

BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN DAN ALAT

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul yang diperoleh di tempat penggilingan padi yang terletak di Desa Sakatiga, Indralaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan. Bahan lain yang digunakan antara lain ragi tempe, akuades, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 , KCl, HCl, NaOH, dan nheksan.

Alat yang digunakan antara lain gelas piala ukuran 100 ml dan 500 ml, labu erlenmeyer ukuran 250 ml, pengaduk, ose, bunsen, laminar, pH meter, corong buncher, timbangan analitik, *autoclave*

Penelitian yang dilakukan meliputi 4 tahap utama, yaitu persiapan kultur kapang, fermentasi bekatul, ekstraksi minyak bekatul dengan cara maserasi dan soxhletasi.

CARA KERJA

Penyiapan sampel V3H3, V3H6, V3H9, V5H3, V5H6, V5H9, V7H3, V7H6, V7H9 dengan persiapan kultur kapang, fermentasi bekatul, ekstraksi minyak bekatul dengan cara maserasi dan soxhletasi (Yossi *et al.*, 2014)

Persiapan Kultur Kapang (pembuatan inokulum)

Pembuatan inokulum yaitu dimulai dengan membuat larutan suspensi miselia kapang. Miselia dibuat dari 4 kultur stok sebagai biakan induk. Masing-masing kultur kemudian ditambah dengan 10 mL akuades, lalu miselia kapang dikikis secara halus menggunakan jarum ose steril hingga terkikis seluruhnya. Semua larutan suspensi miselia kapang dimasukkan ke dalam gelas kimia steril lalu diencerkan hingga mencapai volume 100 mL. Kemudian suspensi dihomogenkan dengan cara diaduk.

Fermentasi Bekatul

Pertama-tama, bekatul disaring dengan ukuran partikel 60 mesh. Bekatul ditimbang sebanyak 20 g dan kemudian dimasukkan ke dalam botol lalu ditambah dengan sejumlah mineral, yaitu 0,1 g KH_2PO_4 ; 0,05 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,05 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 1 g NaNO_3 ; 0,05 g KCl. Selanjutnya semua media fermentasi dalam botol ditutup rapat dengan aluminium foil dan siap disterilkan. Di dalam laminar, semua media fermentasi yang telah disterilisasi ditambah dengan akuades steril

dengan inokulum yang bervariasi, yaitu 3 mL, 5 mL, dan 7 mL hingga A_w 65% pada pH 5-7. Apabila belum mencapai pH tersebut, ditambahkan HCl atau NaOH, kemudian dilakukan fermentasi untuk menentukan volume inokulum optimumn pada variasi waktu fermentasi 3, 6, dan 9 hari.

Ekstrak Minyak Bekatul dengan Maserasi

Sampel bekatul yang telah selesai difermentasi, dimaserasi dengan n-heksan selama 24 jam. Perbandingan masa bekatul dengan pelarut adalah 1:4 (w/v). Setelah maserasi, ekstrak minyak dalam heksan disaring dengan corong Buncner untuk memisahkan ekstrak dari bekatul. Ekstrak minyak dalam pelarut heksan kemudian diuapkan untuk menguapkan pelarutnya dengan menggunakan evaporator. Pelarut jernih yang tertampung lalu dimasukkan dalam botol penampung sisa pelarut (Sukma *et al.*, 2010).

Ada 9 perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu fermentasi bekatul dengan

volume inokulum 3 ml dan waktu fermentasi 3 hari (V3H3), volume inokulum 3 ml dan waktu fermentasi 6 hari (V3H6), volume inokulum 3 ml dan waktu fermentasi 9 hari (V3H9), volume inokulum 5 ml dan waktu fermentasi 3 hari (V5H3), volume inokulum 5 ml dan waktu fermentasi 6 hari (V5H6), volume inokulum 5 ml dan waktu fermentasi 9 hari (V5H9), volume inokulum 7 ml dan waktu fermentasi 3 hari (V7H3), volume inokulum 7 ml dan waktu fermentasi 6 hari (V7H6), dan volume inokulum 7 ml dan waktu fermentasi 9 hari V7H9.

Analisis Komposisi Asam Lemak pada Minyak Bekatul dengan GCMS (Sukma *et al.*, 2010).

Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GCMS) merupakan alat yang digunakan untuk menganalisis komposisi asam lemak yang terdapat dalam minyak

bekatul. Analisis GCMS dilakukan di laboratorium bersama Institut Pertanian Bogor. Kondisi GCMS yang digunakan adalah :

Suhu kolom = 60°C, Suhu Injektor = 310°C, Suhu detector = 320°C, Volume injeksi = 2 µL, Tekanan = 100 kPa, Laju alir = 36 mL, Gas pembawa = helium, Kolom = DB – 5 ms, Panjang kolom = 30 m, dan Diameter kolom = 0,25 mm

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Variasi Volume Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Kandungan Asam Lemak Tak Jenuh Minyak Bekatul

Analisa kandungan asam lemak tak jenuh bekatul hasil fermentasi dengan variasi volume inokulum dan waktu fermentasi menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectroscopy* (GCMS) dapat dilihat pada Tabel 1. Fermentasi bekatul

dengan volume inokulum 3 ml, 5 ml dan 7 ml dengan waktu fermentasi 3 hari menunjukkan jumlah kandungan asam lemak tak jenuh lebih tinggi (% w/w) yaitu masing-masing; 33,14 ; 35 ; 35,94 jika dibandingkan dengan kontrol 32,11 % w/w. Hal ini menunjukkan bahwa besarnya volume inokulum dan waktu fermentasi mempengaruhi kandungan asam lemak tak jenuh yang dihasilkan. Penyebab hal ini adalah karena kapang termasuk jenis mikroorganisme penghasil lemak tinggi. Dengan media fermentasi kapang *Rhizopus oryzae* menemukan kehidupan yang optimal untuk berkembang karena dibantu oleh substrat yang menyediakan karbon dan nitrogen sebagai nutrisinya sehingga dihasilkan enzim dan asam lemak yang lebih banyak. Bekatul yang memiliki kandungan lemak dan asam lemak tak jenuh tinggi dengan adanya enzim yang dihasilkan oleh kapang akan lebih tersedia.

Tabel 1. Kandungan asam lemak tak jenuh pada minyak bekatul hasil proses maserasi*

Perlakuan											Unit
ALTJ	K	V3H3	V3H6	V3H9	V5H3	V5H6	V5H9	V7H3	V7H6	V7H9	
C14:1	0,06	0,09	0,20	0,24	0,02	0,26	0,24	0,09	0,17	0,18	% w/w
C16:1* *	0,11	0,10	0,08	0,24	0,10	0,09	0,24	0,11	0,08	0,19	% w/w
C17:1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	% w/w
C18:ln 9t	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02	0,08	0,05	0,11	0,00	% w/w
C18:ln 9c**	16,05	17,27	10,97	5,81	17,68	8,74	4,43	19,41	10,93	2,59	% w/w
C18:2n 6c**	15,11	14,82	10,15	5,93	16,38	8,03	4,90	15,41	9,80	2,80	% w/w
C18:3n 6	0,02	0,04	0,03	0,00	0,00	0,03	0,03	0,02	0,20	0,04	% w/w
C20:1* *	0,21	0,25	0,16	0,07	0,19	0,13	0,07	0,29	0,16	0,05	% w/w
C18:3n 3**	0,47	0,47	0,33	0,15	0,62	0,29	0,12	0,45	0,30	0,08	% w/w
C20:2* *	0,04	0,06	0,03	0,00	0,03	0,03	0,00	0,07	0,02	0,00	% w/w
C20:3n 3	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	% w/w
C22:ln 9***	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	% w/w
C20:4n 6***	0,00	0,02	0,05	0,00	0,00	0,04	0,04	0,02	0,04	0,05	% w/w
Jmlh	32,11	33,14	22,01	12,49	35,00	17,66	10,20	35,94* ***	21,81	5,98	

Keterangan ; ALTJ, Asam Lemak Tak Jenuh, * Sumber hasil Analisa GCMS Laboratorium Bersama IPB Bogor, 2013; ******kandungan asam lemak tak jenuh semakin menurun seiring lamanya waktu fermentasi; *******Tambahan asam lemak tak jenuh hasil fermentasi; ********Volum inokulum dan waktu fermentasi (V7H3) yang paling optimum

Besarnya volume inokulum yang ditambahkan pada bekatul akan berpengaruh pada kandungan asam lemak minyak bekatul karena akan berpengaruh pada hasil metabolisme kapang yaitu enzim (desaturase dan elongase) yang mengkatalis pembentukan asam lemak tak jenuh dan lipid. Telah dilaporkan bahwa aktivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme oleaginous (bakteri, khamir, kapang serta alga tertentu) akan semakin besar ketika tercukupinya sumber karbon dan nitrogen pada substrat, sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel kapang dan metabolisme, serta dapat meningkatkan kemampuan kapang untuk menghasilkan lipid (Ratledge and Wynn., 2002). Hal ini dipertegas oleh Jang *et al* (2000) yang mengemukakan bahwa konsentrasi karbon dan nitrogen di dalam substrat sangat menentukan kualitas dan kuantitas lemak yang dihasilkan oleh kapang. Pada umumnya sebagian besar lemak kapang merupakan asam lemak oleat, palmitat dan linoleat dan sebagian kecil terdiri dari asam stearat, linolenat, palmitoleat. Kesemua jenis asam lemak ini merupakan asam lemak esensial dan sangat dibutuhkan oleh tubuh.

Variasi waktu fermentasi (3, 6 dan 9 hari) untuk masing-masing volume inokulum menunjukkan penurunan jumlah kandungan asam lemak tak jenuh berturut-turut; V3H3, V3H6, V3H9 (penambahan inokulum sebanyak 3 ml) masing masing adalah 33,14: 22,01: 12,49 (% w/w), V5H3, V5H6, V5H9 (penambahan inokulum sebanyak 5 ml) masing masing adalah 35,17,66:10,2 (% w/w) dan V7H3, V7H6, V7H9 (penambahan inokulum sebanyak 7 ml) 35,94:21,81:5,98 (Tabel 1). Kadar penurunan jumlah kandungan asam lemak tak jenuh dari waktu fermentasi 3 hari ke 9 hari untuk masing-masing volume inokulum (3 ml, 5 ml dan 7 ml) masing masing adalah 37,69%:29,14% dan 16,64% (% w/w). Hasil tersebut mengindikasikan

bahwa waktu fermentasi selama 3 hari memberikan jumlah kandungan asam lemak yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan waktu fermentasi 6 hari dan 9 hari, dan semakin lama waktu fermentasi menunjukkan jumlah kandungan asam lemak tak jenuh yang semakin menurun. Penyebab ini diduga erat kaitannya dengan ketersediaan nutrisi dalam substrat. Rasio C: N pada substrat sangat berpengaruh terhadap kandungan asam lemak tak jenuh yang dihasilkan. Perkembangan sel kapang terhambat dengan bertambahnya waktu fermentasi akibat cadangan nutrisi pada substrat yang sudah habis untuk dimanfaatkan, akibatnya enzim dan lemak yang dihasilkan juga menurun. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Sukma *et al.*, (2010) bahwa bekatul hasil fermentasi padat dengan penambahan 5 ml dan 7 ml inokulum *Aspergillus terreus* memiliki persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh (asam linoleat dan asam eikosenoat) lebih kecil dibandingkan dengan penambahan 3 ml inokulum. Semakin banyak inokulum maka semakin banyak nutrisi yang dibutuhkan. Ketika nutrisi tidak tercukupi maka kapang tidak dapat memperbanyak selnya sehingga aktivitas metabolismenya terhambat dan kapang mulai mengalami kematian. Pertumbuhan sel kapang yang terhambat menyebabkan metabolisme sel kurang sempurna sehingga menghasilkan enzim yang sedikit. Jenis enzim yang dihasilkan kapang adalah amylase, lipase dan protease. Terdapat hubungan konsentrasi inokulum dan waktu fermentasi terhadap jumlah enzim dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Bertambahnya inokulum dan waktu fermentasi yang lama, menyebabkan persediaan nutrisi substrat jadi berkurang, sehingga menurunkan kehidupan sel kapang. Hal ini mengakibatkan enzim yang dihasilkan juga berkurang. Aktivitas enzim lipase yang bertugas menguraikan lemak

menjadi asam lemak pun juga menurun. Akibatnya asam lemak bebas dan asam lemak tak jenuh yang dihasilkan juga terbatas.

Pengaruh Variasi Volume Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Variasi Kandungan Masing-Masing Jenis Asam Lemak Tak Jenuh, dan Pengkayaan Asam Lemak Omega-3 Minyak Bekatul

Fermentasi padat dengan waktu fermentasi 3 hari menunjukkan jumlah kandungan asam lemak tak jenuh yang cukup signifikan dibanding dengan waktu fermentasi lainnya. Kandungan asam lemak tak jenuh oleic acid atau asam oleat, C18:1n9c (V3H3) sebanyak 17,27 (% w/w) menurun menjadi 5,81 (% w/w) pada fermentasi hari ke 9; fermentasi 5 hari (V5H3) sebanyak 17,68 (% w/w) menurun menjadi 4,43 (% w/w) pada hari fermentasi ke 9 dan begitu juga pada V7H3 (fermentasi 7 hari) sebanyak 19,41 (% w/w) menurun drastis menjadi 2,59 (% w/w) pada hari fermentasi ke 9. Angka ini juga diikuti oleh beberapa kandungan asam lemak tak jenuh lainnya (linoleic acid (C18:2n6c), linolenic acid (C18:3n3), cis-11-eicosenoic acid (C20:1). Hal ini diduga pada waktu fermentasi selama 3 hari, kapang *Rhizopus* berada pada fase stasioner, yaitu masa pada saat kapang mengalami masa pertumbuhan terbaik. Razavi *et al.*, (2007) melaporkan bahwa produksi asam lemak dari *Sporobolomyces ruberrimus* mencapai maksimum pada waktu inkubasi 4 hari.

Fermentasi bekatul menggunakan kapang *Rhizopus orizae* juga memperkaya kelimpahan jenis asam lemak tak jenuh (Tabel 1) yaitu Erucic Acid atau asam erukat dan Arachidonic Acid atau asam arakidonat yang tidak ditemui pada kontrol. Terdapat juga asam gamma linolenat; (γ linolenic acid, C18:3n6) adalah asam lemak omega 6 yang merupakan turunan asam linoleat (linoleic acid, C18:2n6c). Asam linoleat merupakan asam lemak esensial yang harus disuplai dari

makanan. GLA atau γ linoleic acid merupakan senyawa penting pembentukan prostaglandin dan dapat digunakan sebagai *Health Food Supplement* untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan akibat gizi lebih seperti jantung koroner, hipertensi dan obesitas. Kecuali itu terdapat juga asam linolenat yang merupakan kelompok asam lemak omega 3 yang sangat baik untuk kesehatan. Menurut Almatsier (2002) bahwa kelompok asam lemak omega-3 adalah asam lemak linolenat (C18:3), eikosapentaenoat (EPA atau C20:5) dan dekosahexaenoat (DHA atau C22:6)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, fermentasi bekatul menggunakan kapang *Rhizopus oryzae* dapat meningkatkan dan memperkaya kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul. Semakin lama waktu fermentasi yang digunakan menunjukkan persentase kandungan asam lemak tak jenuh yang semakin menurun. Berdasarkan kandungan asam lemak tak jenuh hasil maserasi minyak bekatul yang dihasilkan, penambahan inokulum sebanyak 7 ml dengan waktu fermentasi 3 hari memperlihatkan hasil yang optimum. Terdapat penambahan jenis asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul hasil fermentasi yaitu asam erukat (C22:1n9) dan asam arakhidonat (C20:4n6)

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier S. 2002. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Ardiyansyah. 2008. Sehat dan Cantik dengan Bekatul. Inovasi Online ISSN : 0917-8376. Edisi vol.10/XX/Maret.
- Huang, A., Kawamoto, S., Suzuki, O. 2002. Enzymatic preparation of Glycerides rich in Decosahexanoic acid from *thraustochytrid* single cell oils by *candida rugosa* lipase. *Journal of Oleo Science. Japan Oil*

- Chemists Society*. Vol. 51. No.7. 447-455.
- Jang, HD., Lin, YY., Yang, SS. 2000. Polyunsaturated fatty acid production *mortierella alpina* by solid substrate fermentation. Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* : 41: 41-48
- Pagarra H. 2009. Laju Pertumbuhan Jamur *Rhizopus* sp. pada Tempe Kacang Hijau (*Phaseolus radiates* L.). *Bionature*: 10 (2): 69-74
- Ratledge C dan Wynn J. 2002. *Advance in Applied Microbioloy*. <http://www.books.google.co.id> (25 Januari 2017)
- Razani, SH., Mousavi, SM., Yeganeh, HM., Marc I. 2007. Fatty acid and Carotenoid Production by *Sporobolomyces ruberrimus* When Using Technical Glycerol and Ammonium Sulfate. *J Microbiol Biotechnol*: 17 (10): 1591-7.
- Sofyan HMI. 2003. Pengaruh Suhu Inkubasi dan Konsentrasi Inokulum *Rhizopus oligosporus* Terhadap Mutu Kapang Bungkil Kacang Tanah. *Infomatek* : 5 (2): 75-87
- Sukma LN, Zackiyah and GG Gumilar. 2010. Pengkayaan Lemak Tak Jenuh Pada Bekatul Dengan Cara Fermentasi Padat Menggunakan *Aspergillus Terreus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*: 1(1): 66-72
- Yosi F, Sahara E dan Sandi S. 2004. Analisis Sifat Fisik Bekatul dan Ekstrak Minyak Bekatul Hasil Fermentasi *Rhizopus* sp. dengan Menggunakan Inokulum Tempe. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*: 3(1): 7-13